



TRABALHO FINAL

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA

Clínica Universitária de Psiquiatria e Psicologia Médica

O Papel das Células da Glia num Modelo Integrado do Desenvolvimento da Esquizofrenia e da Perturbação Bipolar e as suas Implicações Terapêuticas

Ana Isabel Teixeira Pinheiro

Julho'2018



TRABALHO FINAL

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA

Clínica Universitária de Psiquiatria e Psicologia Médica

O Papel das Células da Glia num Modelo Integrado do Desenvolvimento da Esquizofrenia e da Perturbação Bipolar e as suas Implicações Terapêuticas

Ana Isabel Teixeira Pinheiro

Orientado por:

Dr. Diogo Ferreira

Julho'2018

Resumo

Tem sido proposto que várias perturbações psiquiátricas, nomeadamente a Perturbação Bipolar e a Esquizofrenia, estão associadas a mecanismos inflamatórios que aparentemente se desenvolvem através da interação entre o sistema nervoso e o sistema imunológico.

Foi elaborada uma revisão não sistemática, através da pesquisa de artigos na base de dados Medline/Pubmed, com o objetivo de encontrar novas linhas de evidência, baseadas em estudos em modelos animais e humanos, ensaios pré-clínicos, estudos genéticos, epidemiológicos, imagiológicos e *postmortem*, que impliquem as células da glia como um mediador chave para a resposta inflamatória encontrada nestas patologias. Os resultados desta pesquisa revelaram a presença de uma neuroinflamação que parece resultar de uma ativação exagerada e de alterações quantitativas e qualitativas das células glia em ambas as patologias, que podem constituir alvos terapêuticos novos e interessantes.

Tendo em consideração que também existe uma neuroinflamação noutras patologias sistémicas, como é o caso da Esclerose Múltipla, terapêuticas desenvolvidas que sejam capazes de normalizar os desequilíbrios imunológicos verificados nesta patologia, podem também ser úteis para o tratamento da Esquizofrenia.

Palavras-chave: esquizofrenia, perturbação bipolar, neuroinflamação, células da glia, microglia.

O Trabalho Final exprime a opinião do autor e não da Faculdade de Medicina da Universidade de Lisboa.

Abstract

A large amount of evidence suggests that some psychiatric disorders, such as Schizophrenia and Bipolar Disorder, are associated with inflammatory mechanisms which apparently developed through an interaction between nervous and immunological systems.

It has been conducted a non-systematic review, through electronic searching on Medline/Pubmed databases, with the purpose of finding new lines of evidence, based on human and animal studies, pre-clinical trials and genetic, epidemiological, imagological and *postmortem* assays, which implies glial cells as key mediator in inflammatory response found in these pathologies.

The results of this research reveal a neuroinflammation as a result of an exaggerated activation and quantitative and qualitative modifications of glial cells in both diseases, which could become new and interesting therapeutic targets.

Having in consideration that also exist a neuroinflammation in other systemic pathologies, such as Multiple Sclerosis, developed treatment that are capable of normalize immunological disturbs identified in this disease, might also be useful for Schizophrenia treatment.

Keywords: schizophrenia, bipolar disorder, neuroinflammation, glial cells, microglia.

Índice

| | |
|---|----|
| Resumo | 3 |
| <i>Abstract</i> | 4 |
| Índice de tabelas | 6 |
| Lista de abreviaturas | 7 |
| Introdução..... | 9 |
| Neuroglia – Contextualização..... | 9 |
| Perturbação Bipolar – Contextualização | 10 |
| Esquizofrenia – Contextualização | 11 |
| Objetivos | 12 |
| Materiais e Métodos | 13 |
| Resultados..... | 14 |
| Ativação da Microglia | 14 |
| O papel da neuroinflamação na Perturbação Bipolar | 16 |
| As células da Glia na Esquizofrenia..... | 19 |
| Implicações no tratamento da Esquizofrenia | 25 |
| Conclusão..... | 26 |
| Agradecimentos | 27 |
| Bibliografia | 28 |

Índice de tabelas

Tabelas

Tabela 1 - Microglial activation can be differentiated based on morphology, marker expression, and cytokine secretions..... 15

Tabela 2 - Pro-inflammatory cytokines involved in the different mood switches in Bipolar Disorder patients. 17

Lista de abreviaturas

SNC – Sistema Nervoso Central
SNP – Sistema Nervoso Periférico
BHE – Barreira Hematoencefálica
PB – Perturbação Bipolar
GSK-3 β – Glicogénio sintetase quinase
RM – Ressonância Magnética
P2X7R – *P2X7 purinergic receptor*
DAMPs – *Damage-associated molecular patterns*
ATP – Adenosina trifosfato
HSP – *Heat Shock Protein*
IFN – Interferão
IL – Interleucina
TNF- Fator de necrose tumoral
IGF – *Insulin-growth factor*
TGF – *Transforming growth factor*
MHC-I – Complexo *major* de histocompatibilidade classe I
ICAM – *Intercellular adhesion molecule*
5-HTT – Proteína transportadora de serotonina
COMT – Catecol O-Metiltransferase
BDNF – Fator neurotrófico derivado do cérebro
PET – Tomografia por emissão de positrões
DAOA – Ativador da D-aminoácido oxidase
NF- κ B – *Nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B-cells*
OPG – Osteoprotegerina
KYP – Via da quinurenina
IDO – Indoleamina 2,3-dioxigenase
QUIN – Ácido quinolínico
NMDA – N-metil D-Aspartato
NAA – N-acetil-aspartato
ASPA – Aspartoacilase ou aminoacilase-2
GFAP – Proteína ácida fibrilar glial
NAAG – N-acetil-aspartil-glutamato

IBA-1 – Molécula adaptadora de ligação ao cálcio ionizado 1

HLA – Antígeno leucocitário humano

TSPO – Proteína translocadora

EM – Esclerose Múltipla

Introdução

Neuroglia – Contextualização

Os neurónios do Sistema Nervoso são suportados por uma variedade de células não-excitáveis, denominadas células de sustentação^[1].

No Sistema Nervoso Central (SNC), as células de sustentação são chamadas de células neurogliais ou células gliais, enquanto que no Sistema Nervoso Periférico (SNP) denominam-se células de schwann e células-satélite^[2].

As células de sustentação são responsáveis por várias funções importantes: separam os neurónios entre si, produzem a bainha de mielina, fornecem a fagocitose ativa para remover os resíduos celulares e contribuem para a formação da barreira hematoencefálica (BHE) no SNC^[2].

As células neurogliais são menores e mais numerosas do que os neurónios (5 a 10 vezes mais), ocupando cerca de metade do volume total do Sistema Nervoso^[1].

Há quatro tipos de células gliais: oligodendrócitos, astrócitos, microglia e células endodimárias^[2].

Os oligodendrócitos são pequenas células frequentemente dispostas em fileiras entre os axónios. As membranas plasmáticas de vários oligodendrócitos dispõem-se em camadas concêntricas, formando a bainha de mielina do SNC^[1, 2]. Estas células também se encontram junto dos corpos celulares dos neurónios, tendo uma função semelhante às células-satélite, sendo por isso conhecidas como oligodendrócitos-satélite^[1]. Para além disso, pensa-se que são células capazes de influenciar o ambiente bioquímico dos neurónios^[1].

Os astrócitos são células morfologicamente heterogêneas que proporcionam suporte físico e metabólico para os neurónios do SNC^[2]. Possuem prolongamentos que lhes permitem interagir com os vasos sanguíneos, com os axónios e com as dendrites^[2]. São as maiores células neurogliais, e formam uma rede de células no SNC que comunica com os neurónios, modulando muitas das suas atividades^[2]. Várias pesquisas sugerem que os astrócitos secretam citocinas que regulam a atividade das células imunológicas que entram no Sistema Nervoso em caso de doença^[1]. Para além disso, podem também apresentar funções de fagocitose, eliminando terminais sinápticos degenerados. Em determinadas doenças, após a morte dos neurónios, os astrócitos proliferam e preenchem os espaços anteriormente ocupados pelos neurónios. Este processo denomina-se Gliose^[1]. A microglia é constituída por células com propriedades fagocitárias, que correspondem a 5% de todas as células gliais do SNC no adulto. São consideradas como parte do sistema

fagocitário mononuclear, sem relação embriológica com os restantes tipos de células neurogliais, tendo origem nas células precursoras de monócitos da medula óssea. São células inconspícuas, sendo as menores das células neurogliais, com núcleo pequeno, escuro e alongado^[2]. Têm variadas funções tais como reconhecimento de elementos patogénicos, fagocitose, apresentação de antigénios e *remodeling* sináptico^[3]. As células microgliais entram no parênquima do SNC, durante o período fetal, a partir do sistema vascular, e removem restos de células que sofreram apoptose durante o desenvolvimento do sistema nervoso^[2]. Num indivíduo saudável, sem lesões e/ou alterações no Sistema Nervoso, as células da microglia parecem estar inativas, sendo por vezes chamadas de *resting microglial cells*^[1, 3]. Estas células são responsáveis pela manutenção de um ambiente saudável em condições não patológicas, sendo as primeiras células a intervir em situação de lesão ou doença^[3]. Nestas situações, elas são ativadas, alterando a sua morfologia e função, e migram imediatamente para o local afetado^[3]. Uma vez no local, as células proliferam e aumentam a sua capacidade fagocitária^[1, 3].

Perturbação Bipolar – Contextualização

A Perturbação Bipolar (PB) é uma perturbação do humor caracterizada por episódios de mania, associados por vezes a episódios depressivos^[3]. A sua etiologia continua desconhecida, no entanto têm sido realizados inúmeros estudos com o propósito de elucidar os mecanismos envolvidos no desenvolvimento e progressão deste distúrbio^[4]. De acordo com várias evidências, não parece existir uma causa única da perturbação, mas sim um grupo de fatores, tais como fatores genéticos, ambientais e de estilo de vida, que em conjunto contribuem para o desenvolvimento, manutenção e progressão da patologia^[4-7].

Tradicionalmente, a fisiopatologia da PB é atribuída a défices dos neurotransmissores monoamínicos, com um foco especial na serotonina, sobretudo na depressão bipolar^[8]. Estas conclusões baseiam-se no mecanismo de ação dos antidepressivos, nomeadamente do lítio e do valproato^[8].

Para além disso, estudos recentes sugerem que a microglia ativada parece constituir uma ligação fisiológica entre o sistema serotoninérgico e a via glicogénio sintetase quinase (GSK)-3 β /Wnt, através da neuroinflamação^[8].

Esquizofrenia – Contextualização

A esquizofrenia é uma doença crónica e incapacitante, que afeta cerca de 0-5 a 1% da população mundial^[3, 9, 10]. É definida como uma síndrome heterogénea, cuja apresentação clínica envolve sintomas positivos, negativos, afetivos e cognitivos, e que tende a manifestar-se no final da adolescência ou início da idade adulta^[9, 11].

Na tentativa de explicar a origem desta patologia, foram propostas várias teorias e hipóteses, nomeadamente a hipótese genética, a hipótese associada a fatores ambientais, a hipótese associada aos neurotransmissores (dopamina, serotonina, glutamato e ácido gama-aminobutírico), a hipótese associada ao neurodesenvolvimento e a hipótese inflamatória^[9]. De facto, uma das grandes dificuldades encontrada na abordagem etiológica da doença foi a integração dos vários modelos existentes, visto que nenhuma destas teorias consegue, individualmente, dar resposta às inúmeras dúvidas que ainda persistem sobre a doença, o que reforça uma provável etiologia multifatorial^[3, 9, 12].

A Esquizofrenia é uma doença que afeta o SNC e que parece envolver perda progressiva de substância cinzenta e substância branca, condicionada pela diminuição do número de células da glia, podendo ser considerada como uma perturbação do neurodesenvolvimento^[13, 14]. Contudo, embora imagens de ressonância magnética (RM) tenham detetado alterações mais pronunciadas na substância cinzenta do que na substância branca, técnicas não volumétricas sugerem alterações claras na microestrutura da substância branca^[15, 16].

Uma diferença muito importante entre a Esquizofrenia e a maioria das doenças neurológicas e degenerativas, é que as reduções de volume observadas, especialmente, no córtex de associação (pré-frontal, temporal e parietal) e nas estruturas do sistema límbico, no caso específico da Esquizofrenia não estão associadas a uma perda neuronal^[15]. A típica degeneração neuronal encontrada na maioria das doenças degenerativas não foi observada em estudos *postmortem* realizados no tecido cerebral de indivíduos diagnosticados com Esquizofrenia^[15]. Perante estes resultados levantou-se a hipótese de poder existir uma neuroinflamação ligada ao desenvolvimento desta patologia, na qual os elementos de conexão neuronal e as células da glia poderiam estar envolvidos, podendo ser responsáveis pelas alterações estruturais observadas, constituindo deste modo o principal foco histopatológico^[3, 11, 15].

Objetivos

O sistema imunológico, e em particular a microglia, têm sido implicados na fisiopatologia de várias perturbações psiquiátricas, nomeadamente a PB e a Esquizofrenia.

Nos últimos anos, as alterações estruturais, moleculares e funcionais nas células gliais tornaram-se num grande foco de interesse para o estudo dos fundamentos neurobiológicos da Esquizofrenia^[15]. Apesar das células microgliais constituírem menos de 10% do total de células do SNC, são as primeiras a serem ativadas em caso de lesão ou infeção cerebral, e podem contribuir diretamente para a degeneração neuronal, através da produção de citocinas pró-inflamatórias e radicais livres^[3, 10]. Esta resposta excessiva e prolongada pode levar a efeitos deletérios na plasticidade neuronal e induzir a apoptose, o que pode causar alterações comportamentais e cognitivas^[3]. Deste modo, têm sido realizadas várias investigações sobre a Hipótese da Microglia na Esquizofrenia, uma vez que o seu conhecimento pode permitir o desenvolvimento de novas estratégias terapêuticas^[10].

O objetivo deste trabalho é apresentar uma revisão bibliográfica sobre a importância da neuroinflamação na fisiopatologia da PB e da Esquizofrenia. É abordado mais especificamente o papel das células da glia, tendo como foco principal a microglia e as suas possíveis implicações no tratamento da Esquizofrenia.

Materiais e Métodos

Foi realizada uma pesquisa bibliográfica em Inglês na base de dados Medline/PubMed, utilizando combinações das palavras-chave *schizophrenia*, *bipolar disorder*, *neuroinflammation*, *glial cells*, *microglia*, *multiple sclerosis*, resultando em 16575 artigos. Destes, foram selecionados de acordo com a adequação ao tema desta revisão, 88 artigos, através de seleção manual e revisão pormenorizada da bibliografia dos trabalhos de revisão sistemática mais relevantes realizados nesta área.

Todos os artigos selecionados foram escritos em língua inglesa e foram publicados entre 1982 e 2017.

Foram também consultados três manuais de texto e uma base de dados de ensaios clínicos a decorrer, citados posteriormente na bibliografia.

Resultados

Ativação da Microglia

A microglia é constituída por células residentes no SNC que são geralmente as primeiras a serem ativadas em resposta a danos nos tecidos ou infeções cerebrais^[64]. Em resposta às alterações ocorridas no ambiente que as envolve, as células da microglia podem ser ativadas, alterando a sua morfologia e funções^[3, 18]. Vários estudos, realizados em modelos animais e humanos, demonstraram que modificações no número e/ou morfologia das células da microglia estão associadas às alterações cognitivas e comportamentais observadas em algumas perturbações psiquiátricas^[3, 8, 19–23]. A microglia pode ser ativada quer por moléculas, como o *P2X7 purinergic receptor* (P2X7R), quer por constituintes endógenos que são libertados pelas células lesadas, que são conhecidos como *damage-associated molecular patterns* (DAMPs), e que incluem a Adenosina trifosfato (ATP), moléculas da família S100, Histonas e *Heat Shock Protein* (HSP)^[3].

A ativação da microglia é feita de forma contínua entre dois estados, denominados ativação M1 e M2, sendo que cada um é estimulado por moléculas específicas^[3, 12, 24].

A ativação M1 é a ativação clássica, a ativação principal. Este tipo de ativação é desencadeado por determinadas citocinas tais como, interferão (*IFN*)- γ , *interleucina* (*IL*)-1 β , *fator de necrose tumoral* (*TNF*)- α e DAMPs^[12]. As células da microglia podem tornar-se hiperramificadas ou fagocíticas, podendo sintetizar moléculas pró-inflamatórias (*IL*-1 β , *TNF*- α , *IL*-6, entre outras), espécies reativas de oxigénio (radicais superóxido), glutamato e óxido nítrico. Com isto, eliminam as infeções e reparam os tecidos danificados^[3].

A ativação M2 consiste numa ativação alternativa, que pode ser desencadeada por várias citocinas, tais como *IL*-4, *IL*-13 e *IL*-25. Esta é uma via anti-inflamatória, que leva à libertação de citocinas anti-inflamatórias, tais como *IL*-10, *insulin-growth factor* (*IGF*)-1, *transforming growth factor* (*TGF*)- β e fatores neurotróficos, que facilitam a cicatrização e limitam a lesão neuronal^[3, 12]. Esta via de ativação está também envolvida na *clearance* de detritos celulares, na deposição da matriz extracelular e na angiogénese^[25].

Num sistema saudável, a ativação M1 é seguida por uma alteração para a via M2, pois ambas as vias são necessárias para uma resposta imune correta, sendo que o equilíbrio entre as duas ativações é regulado pelo sistema envolvente^[12, 25].

A dominância da via M1, associada a uma resposta inflamatória prolongada, leva à expressão exagerada de citocinas pró-inflamatórias e espécies reativas de oxigénio, que

causam danos nas sinapses e consequentemente ocorre perda sináptica e morte neuronal^[26]. A possibilidade de que a resposta microglial seja uma causa, e não apenas uma consequência da lesão neuronal, foi sugerida pela primeira vez na doença de Alzheimer^[12, 27]. Foi publicado um estudo em 2000 que concluiu que os danos causados pelos mecanismos inflamatórios na doença de Alzheimer, exacerbavam significativamente os processos patológicos que lhe deram origem ^[27]. Foi descrito um mecanismo de auto perpetuação, através do qual a degeneração neuronal ativava a microglia, que por sua vez libertava moléculas neurotóxicas que causavam mais danos neuronais, agravando o desenvolvimento da doença^[12, 27].

A natureza e a magnitude da lesão, juntamente com vários outros fatores, podem influenciar o desenvolvimento dos distintos fenótipos da microglia, ou seja, podem influenciar qual o tipo de ativação, M1 ou M2^[3]. Além desta classificação fenotípica dicotômica, foi também proposta uma escala de ativação da microglia constituída por 5 níveis de ativação ou fenótipos, na qual as células podem ir desde um estadio de repouso até a um estadio de ativação completa. Estes estadios podem ser diferenciados pelas características morfológicas das células e/ou pelo grau de libertação de citocinas e/ou fator de crescimento^[18].

Tabela 1 – Microglial activation can be differentiated based on morphology, marker expression, and cytokine secretions.

| Grade | Characteristics | Ways to differentiate stages | |
|----------|--|--|-------------|
| | | Morphology and Markers | Cytokines |
| Stage 0 | Normal-Ramified | Morphology: long ramified processes | |
| Stage 1 | Alert: thicker processes | Less ramified, thicker processes; ↑OX-42 | TGF-β1 |
| Stage 2 | Homing, Proliferation | Bushy; Proliferation markers | IL-10 |
| Stage 3a | Clustered phagocytes | Amoeboid; possible ↑MHCI, ED-1 (β1CD68) | IL-6, TNF-α |
| Stage 3b | Bystander activation; Lymphocyte binding | ↑MHCI, Lower ICAM than 3a | IFN-γ |

Marshall, S.A., McClain, J.A., Kelso, M.L., Hopkins, D.M. and Pauly, J.R. (2014) Microglial activation is not equivalent to neuroinflammation in alcohol-induced neurodegeneration: the importance of microglia phenotype. 2014: 10.1016/j.nbd.2012.12.016.Microglial.

TGF-β1, *transforming growth factor*-β1; IL, interleucina; MHC-I, complexo *major* de histocompatibilidade classe I; TNF-α, fator de necrose tumoral-α; ICAM, *Intercellular Adhesion Molecule*; IFN-γ, interferon-γ

Recentemente tornou-se claro que a microglia tem funções mais complexas do que se pensava anteriormente. A sua ação estende-se muito para além da resposta inflamatória,

apresentando um papel fundamental na monitorização da função sináptica, estando envolvida na maturação e eliminação das sinapses durante o desenvolvimento, um processo denominado *pruning* sináptico^[12, 28]. Uma diminuição da atividade da microglia durante o neurodesenvolvimento pode levar a uma diminuição do *pruning* sináptico, o que provoca anomalias na conectividade sináptica^[12]. Por outro lado, a hiperatividade da microglia no final da adolescência e na vida adulta, observada em alguns distúrbios neurológicos e psiquiátricos, tem sido associada a uma perda sináptica excessiva e ao declínio cognitivo, sendo que, nesta situação, a inibição da atividade microglial reduz a extensão da perda sináptica patológica e o não agravamento dos danos cognitivos^[12].

O papel da neuroinflamação na Perturbação Bipolar

Do ponto de vista genético, a PB parece apresentar um elevado grau de hereditariedade^[4]. Apesar de ainda não existirem conclusões concretas relativamente aos genes envolvidos no desenvolvimento da PB, foi descrito um grupo específico de genes com expressão alterada em doentes com esta patologia, confirmados por ensaios de neuroimagem^[4]. Esses genes incluem a proteína transportadora de serotonina (5-HTT), a catecol O-Metiltransferase (COMT), o ativador da D-aminoácido oxidase (DAOA), o fator de crescimento derivado do cérebro (BDNF), entre outros^[29, 30].

A nível molecular, a PB parece ser caracterizada pela redução dos níveis de serotonina e BDNF, pela anormal plasticidade cerebral, e pela presença de gliose e neuroinflamação^[4, 8, 17, 31].

Vários estudos sugerem que a inflamação pode estar implicada na fisiopatologia da PB de modo semelhante ao que acontece noutras doenças sistémicas^[32].

Estudos *postmortem* de tecido cerebral de indivíduos diagnosticados com PB demonstraram uma diminuição do número de oligodendrócitos, astrócitos e microglia, bem como alterações no tamanho das células microgliais no córtex pré-frontal. No entanto, o porquê da redução do número das células gliais continua pouco claro uma vez que foi identificada a presença de gliose no cérebro destes indivíduos^[33, 34].

Um estudo recente mostrou um aumento significativo no potencial de ligação do [11C]-(R)-PK11195, que é um marcador de ativação microglial e neuroinflamação^[3, 35]. No estudo participaram quarenta indivíduos diagnosticados com Perturbação Bipolar tipo I e onze indivíduos saudáveis que formaram o grupo de controlo. Todos os indivíduos realizaram uma entrevista psiquiátrica e uma RM, que foi utilizada na análise de dados

anatômicos. Após a administração endovenosa de [11C]-(R)-PK11195, foi realizado uma Tomografia por emissão de positrões (PET) scan dinâmico durante 60 minutos^[35]. Verificou-se um aumento do potencial de ligação do [11C]-(R)-PK11195 no hipocampo direito dos pacientes com Perturbação Bipolar tipo I submetidos ao estudo. O mesmo não se verificou nos indivíduos de controlo^[3, 35].

É também observada uma perda de neurónios no hipocampo, que pode ser explicar pela ativação da microglia^[36]. Como referido anteriormente, a ativação da microglia parece levar à libertação de citocinas pró-inflamatórias, tais como o *nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B-cells* (NF-κB), a IL-6, a IL-1β e o TNF-α^[4]. Estas citocinas parecem reduzir os níveis de serotonina e dos fatores neurotróficos, nomeadamente o BDNF, o que confere um ambiente tóxico para os neurónios^[37–40]. Para além disso, estudos realizados em humanos associaram a presença de determinadas citocinas pró-inflamatórias com a ocorrência dos diferentes estados de humor característicos desta patologia^[4].

Tabela 2 – Pro-inflammatory cytokines involved in the different mood switches in Bipolar Disorder patients.

| Mania | Depression | Suicide | Sleep deprivation | Sadness | Remission | Euthymic |
|--|---|---|--|--|---|---|
| IL-1β (Söderlund <i>et al.</i> , 2011) sIL-1R (Maes <i>et al.</i> , 1995) IL-2 (Brietzke <i>et al.</i> , 2009) sIL-2R (Maes <i>et al.</i> , 1995) IL-4 (Brietzke <i>et al.</i> , 2009) IL-6 (Maes <i>et al.</i> , 1995; Remlinger-Molenda <i>et al.</i> , 2012) IL-8 (O'Brien <i>et al.</i> , 2006) INF-γ (Maes <i>et al.</i> , | IL-1β (Remlinger-Molenda <i>et al.</i> , 2012) IL-6 (Benedetti <i>et al.</i> , 2002; Ortiz-Domínguez <i>et al.</i> , 2007; Prather <i>et al.</i> , 2009) IL-8 (O'Brien <i>et al.</i> , 2006) INF-γ (Remlinger-Molenda <i>et al.</i> , 2012) TNF-α (Ortiz-Domínguez <i>et al.</i> , 2007) | IL-1β (Monfrim <i>et al.</i> , 2014) | IL-1 (Imeri and Opp, 2009) IL-6 (Ritter <i>et al.</i> , 2013) TNF-α (Imeri and Opp, 2009) | IL-1Ra (Hope <i>et al.</i> , 2011) IL-6 (Hope <i>et al.</i> , 2011) OPG (Hope <i>et al.</i> , 2011) | IL-10 (Remlinger-Molenda <i>et al.</i> , 2012) | IL-1β (Ritter <i>et al.</i> , 2013) IL-4 (Brietzke <i>et al.</i> , 2009) sTNF-R1 (Munkholm <i>et al.</i> , 2013) |

| | | | | | | |
|--|--|--|--|--|--|--|
| 1995; Remlinger- Molenda <i>et al.</i> , 2012) TNF-α (Ortiz- Domínguez <i>et al.</i> , 2007) sTNF-R1 (Hope <i>et al.</i> , 2011; Munkholm <i>et al.</i> , 2013) | | | | | | |
|--|--|--|--|--|--|--|

Naaldijk, Y.M., Bittencourt, M.C., Sack, U. and Ulrich, H. (2016) Kinins and microglial responses in bipolar disorder: A neuroinflammation hypothesis. *Biological Chemistry*, **397**, 283–296.

IL, interleucina; IFN, interferão; TNF, fator de necrose tumoral; OPG, osteoprotegerina

Nos indivíduos com PB foi detetada a presença da enzima GSK-3 β na sua forma ativa^[4, 8, 41]. A GSK-3 β é a principal enzima da via Wnt, via essa que constitui uma cascata de sinalização crítica para a plasticidade sináptica, para o ritmo circadiano e para a sobrevivência celular^[8]. O lítio e o valproato representam os tratamentos de primeira linha para a PB e, apesar dos seus mecanismos da ação não estarem ainda completamente elucidados, aparentam reduzir a ativação das células imunológicas através da inativação da GSK-3 β na via Wnt^[8]. Estudos *in vitro* utilizando linhas de células neuronais demonstraram que o lítio e o valproato inibem a atividade da GSK-3 β , o que leva à acumulação de β -catenina. A β -catenina é um fator de transcrição que estimula a produção e ativação de fatores neurotróficos e atenua a ativação da microglia^[8, 42, 43]. No entanto, nos indivíduos com PB a regulação da GSK-3 β está danificada, o que parece estar associado a um aumento constante da neuroinflamação induzida pela microglia, a uma diminuição da regeneração dos fatores neuroprotetores e a uma deterioração da plasticidade neuronal^[41].

Vários estudos em modelos animais sugerem que os níveis de serotonina e de BDNF podem ser manuseadas por determinadas citocinas em circulação e pela microglia ativada devido à influência que estas parecem exercem na via da quenurenina (KYP)^[42, 44]. A KYP é uma via metabólica responsável pela degradação do triptofano, um aminoácido essencial precursor da serotonina, sendo que a sua ativação parece estar associada à depleção do triptofano e, conseqüentemente, à diminuição dos níveis de serotonina^[4, 8, 45, 46]. A ativação desta via parece resultar num aumento da atividade da indoleamina 2,3-dioxigenase (IDO), que é a enzima responsável pela metabolização do triptofano em quinurenina^[4, 8, 46]. Esta enzima é amplamente distribuída nas células imunocompetentes,

nos pulmões, nos rins e no cérebro, e é estimulada por citocinas pró-inflamatórias tais como, $\text{INF-}\gamma$, IL-2, IL-6 e $\text{TNF-}\alpha$, previamente libertadas pela microglia ativada^[3, 46]. Após o triptofano ser metabolizado em quinurenina, sofre processos de catalisação e degradação, originando ATP ou ácido quinolínico (QUIN)^[46]. A produção exagerada de QUIN parece diminuir os níveis de BDNF, ativar cascatas pró-apoptóticas e causar uma excito-toxicidade glutamatérgica mediada pelos recetores N-metil D-Aspartato (NMDA), uma vez que o QUIN é agonista destes recetores^[8, 46–49].

As células da Glia na Esquizofrenia

Através de estudos animais, humanos e imagiológicos *in vivo* e da utilização de análise genética, de técnicas morfológicas, bioquímicas e de biologia molecular *postmortem*, foram descritas alterações nos três tipos principais de células gliais e na sua conexão com os restantes elementos do SNC^[3, 10, 12, 15, 50]. Estas alterações incluem reduções de volume global e focal, hipodensidades, anisotropia fracionada reduzida, defeitos de mielinização e alterações na densidade^[15, 51, 52].

Relativamente aos oligodendrócitos, verificou-se uma diminuição da sua densidade populacional, bem como alterações na sua distribuição espacial^[15, 53]. Através de técnicas microscópicas, foram também relatadas alterações morfológicas nos oligodendrócitos remanescentes, nomeadamente distrofia, necrose e apoptose, bem como aumento da densidade volumétrica com expansão e formação de vacúolos no citoplasma^[1, 15, 53].

A principal função dos oligodendrócitos consiste na produção de mielina e na manutenção das bainhas de mielina nos axónios dos neurónios de SNC^[15]. Danos graves nestas células podem resultar em desmielinização^[1]. Uma vez que a mielinização é fundamental para que ocorra uma condução rápida e fluída da informação entre as diferentes áreas cerebrais, as alterações patológicas nos oligodendrócitos e as anomalias de mielinização daí derivadas podem explicar as perturbações de conexão entre o córtex, sistema límbico e estruturas subcorticais, frequentemente descritas nos indivíduos com Esquizofrenia^[15]. Foram publicados vários artigos na tentativa de sugerir perfis de expressão genética dos oligodendrócitos que pudessem ser associados à Esquizofrenia^[15]. Em 2008 foi publicada uma revisão da literatura, na qual foi descrito um subconjunto de genes relacionados com mielina, e cujas mutações têm implicação na Esquizofrenia^[15, 54].

Para além disso, nesta patologia, foi também detetada uma *upregulation* significativa do N-acetil-aspartato (NAA) e das enzimas envolvidas no seu metabolismo^[15]. O NAA é o segundo metabolito mais abundante no cérebro, logo após o glutamato^[55]. É também

considerado como sendo a principal fonte de grupos acetil no SNC^[55]. Estes grupos acetil são posteriormente incorporados na mielina e nos restantes lípidos^[55]. Foi também observada uma *down-regulation* da principal enzima responsável pela hidrólise do NAA, a aspartoacilase ou aminoacilase-2 (ASPA)^[55]. Esta enzima é expressa principalmente nos oligodendrócitos^[55]. De acordo com estudos *postmortem*, o aumento dos níveis do NAA parecem estar relacionados com a diminuição dos níveis da ASPA nos oligodendrócitos^[55]. A mielina é constituída por 30% de proteínas e 70% de lípidos^[55]. Uma disfunção nos oligodendrócitos pode levar a alterações na regulação da ASPA, que por sua vez irá influenciar a formação dos grupos acetil e, por conseguinte, a síntese de lípidos. Deste modo, a síntese dos componentes lipídicos da mielina é afetada, comprometendo a produção da mielina^[15, 55, 56]. E de facto, foi detetada uma diminuição da intensidade na coloração histológica da mielina no tecido cerebral de doentes com Esquizofrenia^[15]. Estes achados parecem representar mais um ponto a favor da hipótese da disfunção dos oligodendrócitos na esquizofrenia^[15, 55, 56].

Os astrócitos constituem uma população heterogénea de células gliais, altamente adaptadas ao seu ambiente local^[15]. Um comportamento anormal dos astrócitos pode estar na base das disfunções verificadas ao nível das sinapses e da neurotransmissão de dopamina e glutamato^[15]. De facto, há evidências crescentes de que alterações no normal funcionamento dos astrócitos podem constituir mecanismos de extrema importância para o desenvolvimento de variados distúrbios no SNC, tais como enxaquecas, epilepsia, leucodistrofias, doenças inflamatórias desmielinizantes, infeções, edema cerebral, distúrbios metabólicos, distúrbios neurodegenerativos e esquizofrenia^[15, 57].

Perante uma lesão no SNC, os astrócitos sofrem hiperplasia e hipertrofia, e tornam-se fibrosos, independentemente da sua morfologia^[1]. No entanto, a perda de tecido neuronal não é compensada em volume pela hipertrofia glial. O citoplasma dos astrócitos hipertrofiados contém um grande número de fibrilas e grânulos de glicogénio, que vão formar regiões altamente densas nas áreas de degeneração neuronal, formando a cicatriz glial^[1]. Perante isto, e de acordo com estudos realizado por Cotter *at al*, publicados em 2001, seria de esperar um aumento do número de astrócitos no SNC de indivíduos com Esquizofrenia^[15, 58]. Contudo, os dados sobre a densidade astrocitária na Esquizofrenia são bastante controversos. Trabalhos iniciais baseados na morfologia dos astrócitos na Esquizofrenia, revelaram sinais de gliose relacionados com a patologia^[15]. Vários investigadores, utilizando a coloração histoquímica de Holzer, observaram um aumento da densidade dos astrócitos em múltiplas áreas corticais e na substância cinzenta

periaquedutal^[15, 59–61]. Contudo, esses achados positivos iniciais não foram confirmados posteriormente, quando foram utilizadas técnicas imuno-histoquímicas para identificar os astrócitos, como a coloração de Nissl^[15]. Para além disso, em publicações mais recentes, foi observado que, em várias áreas corticais e subcorticais, havia uma perda astrocitária em vez de gliose^[15, 58, 62]. No entanto, não se pode excluir que a perda de astrócitos se deva, em parte, ao tratamento com antipsicóticos^[15]. De facto, em 2008 foi publicado um estudo que revelou que a exposição crónica de macacos ao haloperidol e à olanzapina estava associada a uma redução de 10 a 18% do número de células gliais na substância cinzenta, sendo que essa redução se devia principalmente a um menor número de astrócitos^[15, 63].

A expressão genética alterada de moléculas estruturais e funcionais expressas pelos astrócitos, nomeadamente da proteína glutamina sintetase, da proteína ácida fibrilar glial (GFAP), do N-acetil-aspartil-glutamato (NAAG) e da COMT, parece desempenhar um papel igualmente importante na fisiopatologia da Esquizofrenia^[64–68]. Abordando mais especificamente a GFAP, foram detetadas reduções significativas dos valores de mRNA da GFAP e também dos níveis da própria proteína na substância branca do córtex cingulado anterior de indivíduos com Esquizofrenia^[64, 65]. Esses achados tanto podem ser interpretados como resultado de uma redução dos astrócitos que expressam a GFAP ou como um comprometimento funcional das células ainda existentes^[65]. A capacidade que os astrócitos possuem de monitorizar e responder às alterações das condições nas sinapses glutamatérgicas pensa-se ser, em grande parte, possível devido aos seus extensos prolongamentos ramificados^[65]. O citoesqueleto destes prolongamentos contém a GFAP, que facilita as alterações morfológicas dos astrócitos^[65]. Um citoesqueleto alterado devido a mutações no gene da GFAP pode levar à neurodegeneração e morte prematura, como se verifica na Doença de Alexandre, uma patologia pertencente ao grupo das leucodistrofias^[65]. Experiências *in vivo* e *in vitro* com expressão alterada da GFAP, demonstraram que a perda desta proteína no citoesqueleto dos astrócitos leva à diminuição da ramificação dos seus prolongamentos, a um funcionamento sináptico anormal e a um comportamento aberrante em roedores^[65]. Por isso, esta proteína parece ser necessária para a integridade do citoesqueleto e para o desenvolvimento de ramificações nos prolongamentos, sendo que alterações na expressão desta molécula podem levar a disfunções acentuadas^[65].

Tem sido dada uma atenção especial a uma proteína em particular, a proteína de ligação ao cálcio S100B^[15]. A proteína S100B é um dos membros das proteínas de ligação ao

cálcio, cobre e zinco pertencentes à superfamília de S100-calmodulina-troponina^[69]. É principalmente encontrada no Sistema Nervoso, onde a sua distribuição é bastante abundante^[69]. Inicialmente, a proteína S100B era considerada como um marcador exclusivo dos astrócitos, no entanto, após várias investigações percebeu-se que uma porção considerável de oligodendrócitos também expressava esta proteína^[15]. A sua ação neuronal é dose-dependente^[69]. Níveis nanomolares estimulam o crescimento neuronal e promovem a sua sobrevivência. No entanto, níveis micromolares resultam num efeito contrário, podendo até induzir a apoptose neuronal^[69]. Níveis elevados da proteína S100B nos fluídos corporais têm sido considerados como um biomarcador do dano ou disfunção das células da glia na Esquizofrenia^[15, 69, 70]. Na Esquizofrenia paranoide, o número de células gliais S100-imunopositivas está elevado^[15]. Vários investigadores relacionaram o aumento dos níveis séricos da proteína S100B com as fases agudas da Esquizofrenia e com o desenvolvimento de sintomas cognitivos^[69]. No entanto, essa associação ainda não foi comprovada, uma vez que existem muito poucos artigos publicados sobre a distribuição celular da proteína S100B no SNC de indivíduos com esquizofrenia^[69]. A proteína S100B foi também detetada em áreas que não pertencem ao SNC, nomeadamente no tecido adiposo, linfócitos, melanócitos, miocárdio, células endoteliais e musculares lisas vasculares, células satélites de gânglios da raiz dorsal e células de schwann do SNP^[69]. Para além disso, foi detetada uma imunorreactividade da proteína S100B em muitos tipos de células neuronais, incluindo oligodendrócitos, células endimárias, epitélio do plexo protético, e alguns neurónios de tecido cerebral humano normal^[69]. Deste modo, uma vez que esta proteína não é específica das células do SNC, todos os estudos baseados nestas associações devem ser cuidadosamente interpretados^[69]. Como discutido anteriormente, a ativação da microglia parece contribuir para o desenvolvimento de várias perturbações psiquiátricas, nomeadamente da Esquizofrenia. Portanto, seria útil perceber que fatores podem estar implicados na ativação exagerada da microglia e de que modo poderíamos detetar essa ativação, para que posteriormente se possa prevenir os potenciais *triggers* e modular a função da microglia de modo a evitar a progressão ou até mesmo o desenvolvimento da Esquizofrenia.

Para tal, foram realizados estudos *postmortem* e imagiológicos *in vivo* em modelos animais e humanos. Estes estudos reportaram um aumento das células microgliais ativas no SNC de indivíduos diagnosticados com Esquizofrenia^[3, 12, 71, 72].

Infeções peri e neonatais, stress materno durante a gravidez, lesões cerebrais no período perinatal, complicações obstétricas e infeções na infância parecem levar à ativação da

microglia, aumentando a sua densidade cerebral em modelos animais de roedores^[3, 12, 73-76]. Mais tarde estas alterações revertam, e a densidade microglial normaliza^[12]. No entanto, quando estes roedores, previamente expostos a riscos perinatais, são expostos a um novo estímulo inflamatório na vida adulta, parecem apresentar uma resposta microglial exagerada^[12]. Um outro estudo demonstrou evidências de um sinergismo da resposta microglial entre insultos perinatais e fatores de stress na adolescência e na vida adulta. Ou seja, as células da microglia podem ser pré-ativadas no período pré-natal, tornando-as vulneráveis a futuras hiperativações crônicas desencadeadas por vários tipos de insultos. Estas ativações exageradas podem causar danos quer na substância branca, quer na substância cinzenta, em regiões como o córtex pré-frontal e o hipocampo, levando a sintomas negativos e cognitivos, e nas estruturas subcorticais, contribuindo para a desregulação dopaminérgica responsável pelos sintomas positivos^[77]. Portanto, podemos concluir que os fatores supracitados parecem constituem fatores de risco para o desenvolvimento de Esquizofrenia, utilizando como veículo a ativação microglia.

Como referido anteriormente, estudos imagiológicos sugerem que na Esquizofrenia parece haver uma diminuição do volume cerebral e compromisso da substância branca e cinzenta. Foram então realizados estudos *postmortem* com o intuito de estudar e caracterizar as alterações celulares da microglia^[12, 78].

A molécula adaptadora de ligação ao cálcio ionizado 1 (IBA-1) tem sido amplamente utilizada para estudar a microglia, uma vez que é um marcador específico da densidade microglial, sendo expressa por células da microglia reativas e quiescentes^[12, 71, 79]. Esta molécula, em particular, apresenta uma expressão aumentada em resposta a vários fatores de stress, nomeadamente situações de derrota social, separação materna e isolamento^[71, 79].

A IBA-1 foi utilizada como um marcador celular, em dois estudos *postmortem*^[12, 78, 80]. No primeiro estudo, realizado em 2014, foram utilizadas amostras de tecido cerebral *postmortem* de 60 indivíduos diferentes. As amostras foram divididas em 3 grupos, sendo que 20 pertenciam a indivíduos com Esquizofrenia, 20 pertenciam a indivíduos diagnosticados com PB, e as restantes 20 pertenciam a indivíduos saudáveis e foram utilizadas como grupo de controlo. Os resultados não mostraram diferenças significativas relativamente à densidade de células microgliais que expressavam IBA-1 nos 3 grupos. Por outro, foram encontradas alterações morfológicas qualitativas em 3 amostras de indivíduos com Esquizofrenia que não foram observadas nas restantes amostras^[80]. No entanto, em 2013, foi realizado um outro estudo que procurava identificar marcadores

inflamatórios aumentados no córtex pré-frontal dorsolateral de indivíduos com Esquizofrenia. E os resultados deste estudo, contrariamente aos anteriores, demonstraram um aumento de 9% da densidade microglial. Contudo, neste estudo, o marcador celular utilizado foi o antigénio leucocitário humano (HLA), que é um marcador específico da microglia ativada, enquanto que o IBA-1 é expresso quer pela microglia ativada, quer pelas células em repouso^[81]. Portanto, este dado pode, talvez, explicar a diferença de resultados obtida.

No segundo estudo em que o IBA-1 foi utilizado como marcador microglial, foram também utilizados outros marcadores. Neste estudo foram utilizados 22 artigos com referência a marcadores de densidade microglial em tecido cerebral *postmortem*.

Desses 22 artigos, 11 relataram aumentam dos marcadores microgliais nas amostras; 8 não encontraram quaisquer alterações nos marcadores; 3 referem uma diminuição dos marcadores da densidade microglial^[78].

Foram também detetadas evidências, em dois outros estudos, de que as alterações das células da microglia estariam relacionadas com o seu fenótipo, sendo que o número de células microgliais alteradas seria superior em doentes com sintomas psicóticos e menor naqueles com sintomas residuais^[69, 82]. Este facto sugere que a ativação microglial pode estar relacionada com as fases ativas da doença^[12, 69, 82].

Uma limitação importante dos estudos *postmortem* é que, mudanças transitórias na densidade da microglia podem não ser detetáveis no momento da morte^[15]. Começaram, então, a ser realizados estudos PET utilizando o marcador [11C]-(R)-PK11195, que permitem quantificar a ativação microglial *in vivo*, como foi referido anteriormente nos estudos imagiológicos da PB^[3, 15]. Estes estudos, constituem uma técnica de imagem *in vivo* adequada para ultrapassar essa limitação^[15]. Um estudo que utilizou esta técnica, mostrou uma ativação microglial em indivíduos com Esquizofrenia nos primeiros 5 anos de doença^[13]. Este facto sugere que, neste período, a lesão neuronal está presente e que o dano neuronal pode estar envolvido na perda de substância cinzenta associada a esta doença^[13].

Foram realizados estudos imagiológicos da microglia *in vivo*, em que foram utilizados radioligandos que se ligavam à proteína translocadora (TSPO). Esta proteína é expressa pelas células da microglia, sofrendo uma *upregulation* quando esta é ativada^[12]. No entanto, a TSPO não é expressa exclusivamente pelas células da microglia, sendo também expressada pelas células endoteliais e pelos astrócitos, o que limita a sua sensibilidade e especificidade como marcador da ativação microglial^[12, 83].

Implicações no tratamento da Esquizofrenia

Os tratamentos atualmente utilizados para a Esquizofrenia baseiam-se na sua grande maioria, no bloqueio da neurotransmissão dopaminérgica^[12]. Apesar de serem bastante eficazes no controlo dos sintomas positivos, apresentam um impacto pouco significativo nos sintomas negativos e cognitivos^[12]. E portanto, há uma necessidade urgente de novas estratégias e alvos terapêuticos^[12]. Neste aspeto, a resposta inflamatória e as células da glia, em particular a microglia, representam um alvo terapêutico interessante, com o potencial de modificar o curso da doença, não se limitando apenas à melhoria sintomática^[12].

Uma ampla variedade de agentes farmacológicos tem a capacidade de alterar as funções da microglia^[12]. Esses agentes incluem fármacos psicotrópicos e outros desenvolvidos para patologias não psiquiátricas, tais como estatinas, anti-inflamatórios não esteróides, N-acetilcisteína, minociclina e natalizumab^[12, 84-88]. Tendo em conta que a ativação da microglia parece contribuir para a fisiopatologia da Esquizofrenia, agentes que modulem a sua atividade podem ser benéficos para o tratamento desta patologia.

Portanto, baseado em todos estes factos, está em curso um ensaio clínico, com o objetivo de analisar a eficácia de um anticorpo monoclonal atualmente utilizado para o tratamento da Esclerose Múltipla (EM) e da Doença de Crohn, o natalizumab, no tratamento da Esquizofrenia^[89]. Este fármaco tem como alvo as células da microglia no SNC, que são hiperativas em indivíduos com EM e também em indivíduos com Esquizofrenia, nos estádios iniciais da doença^[90]. Trata-se de um ensaio quadruplo-cego, uma vez que tanto os pacientes, como os investigadores, os assessores e os responsáveis pela análise de dados nada sabem acerca da alocação do tratamento^[89]. Os investigadores procuram testar o efeito deste fármaco no primeiro episódio psicótico de um grupo restrito de indivíduos^[89].

Conclusão

As células da glia têm sido implicadas na fisiopatologia de determinadas doenças psiquiátricas, como é o caso da Esquizofrenia e da Perturbação Bipolar. O seu mecanismo de ação parece basear-se numa resposta neuroinflamatória modulada, sobretudo, pelas células microgliais. Perante a ocorrência de um estímulo que afeta o ambiente envolvente das células gliais, estas são ativadas e alteram a sua morfologia, função e densidade, podendo esta ativação apresentar efeitos pró ou anti-inflamatórios.

Evidências mostram que as células da microglia podem ser pré-ativadas no período pré-natal, tornando-as vulneráveis a futuras hiperativações crónicas desencadeadas por vários tipos de insultos. Estas ativações exageradas podem causar danos quer na substância branca, quer na substância cinzenta, em regiões como o córtex pré-frontal e o hipocampo, levando a sintomas negativos e cognitivos, e nas estruturas subcorticais, contribuindo para o dano comportamental, executivo, cognitivo e de humor verificado nestas patologias.

No entanto, apesar de toda a especulação relativamente ao papel das células gliais na fisiopatologia destes distúrbios, são necessários ainda mais estudos para compreender o seu papel na totalidade. Embora a ativação da microglia pareça ser uma característica típica das patologias do SNC, a sua identificação apenas tem valor como marcador de inflamação, pois não permite uma compreensão do processo inflamatório em si. Apenas com a determinação do fenótipo da microglia (M1 ou M2) podemos verificar se a ação da microglia é citotóxica ou neuroprotetora.

As evidências encontradas relativamente ao papel das células gliais podem constituir novos alvos terapêuticos. De facto, têm sido realizados vários estudos e ensaios clínicos com o intuito de compreender se a inibição de citocinas pró-inflamatórias ou o aumento dos mediadores anti-inflamatórios podem constituir estratégias terapêuticas benéficas para prevenir o dano neuronal observado nas patologias psiquiátricas, especialmente na Esquizofrenia. Estes estudos abordam estratégias terapêuticas completamente novas, com fármacos previamente utilizados em patologias não psiquiátricas, o que nos leva a pensar se estaremos a entrar numa nova era de imunopsiquiatria na qual os diagnósticos das patologias neurológicas, degenerativas e psiquiátricas talvez devam ser repensados.

Agradecimentos

Em primeiro lugar, gostaria de agradecer ao Dr. Diogo Ferreira por ter aceite o meu convite para orientar este trabalho. Agradeço-lhe todo o seu empenho, dedicação, apoio e exigência que foram fundamentais para a realização da minha Tese de Mestrado.

Em segundo lugar, quero agradecer à minha família e amigos, em particular aos meus pais, por todo o apoio que me deram, não só durante a realização deste trabalho, mas também durante estes seis anos de curso. Muito obrigada pela vossa presença constante e por nunca me terem deixado desistir.

Por último, um especial obrigada ao meu melhor amigo Tomás Moura, por toda a paciência que teve e toda a força que me transmitiu durante as longas horas de trabalho.

Bibliografia

1. Snell, R.S. (2010) Clinical Neuroanatomy. Lippincott Williams & Wilkins, a W.K. business (ed), Seventh Ed.
2. Ross, M.H. and Pawlina, W. (2008) Histologia: Texto e Atlas Em correlação com biologia celular e molecular. Editorial Médica Panamericana S.A.C.F. (ed), Fifth Edit.
3. Réus, G.Z., Fries, G.R., Stertz, L., Badawy, M., Passos, I.C., Barichello, T., et al. (2015) The role of inflammation and microglial activation in the pathophysiology of psychiatric disorders. *Neuroscience*, **300**, 141–154.
4. Naaldijk, Y.M., Bittencourt, M.C., Sack, U. and Ulrich, H. (2016) Kinins and microglial responses in bipolar disorder: A neuroinflammation hypothesis. *Biological Chemistry*, **397**, 283–296.
5. R.H. Belmaker (2004) Bipolar Disorder. *The New England journal of medicine*, 2004: 10.1007/978-3-642-37216-2.
<https://www.psychologytoday.com/conditions/bipolar-disorder>.
6. Fountoulakis, K.N. (2012) Introduction—Bipolar illness: Current understanding and future perspectives. *CNS Neuroscience & Therapeutics*, **18**, 193.
<http://search.ebscohost.com/login.aspx?direct=true&db=psyh&AN=2012-06759-002&site=ehost-live%5Cnhttp://kfount@med.auth.gr>.
7. Machado-Vieira, R., Ibrahim, L. and Zarate, C.A. (2011) Histone Deacetylases and Mood Disorders: Epigenetic Programming in Gene-Environment Interactions. *CNS Neuroscience and Therapeutics*, **17**, 699–704.
8. Watkins, C.C., Sawa, A. and Pomper, M.G. (2014) Glia and immune cell signaling in bipolar disorder: Insights from neuropharmacology and molecular imaging to clinical application. *Translational Psychiatry*, **4**, e350-10.
<http://dx.doi.org/10.1038/tp.2013.119>.
9. Figueira, M.L., Sampaio, D. and Afonso, P. (2016) Manual de Psiquiatria Clínica. Lidel (ed), First Edit.
10. Monji, A., Kato, T. and Kanba, S. (2009) Cytokines and schizophrenia: Microglia hypothesis of schizophrenia. *Psychiatry Interpersonal and Biological Processes*, **63**, 257–265. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19579286>.
11. Meyer, U. (2013) Developmental neuroinflammation and schizophrenia. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, **42**, 20–34.
12. Howes, O.D. and McCutcheon, R. (2017) Inflammation and the neural diathesis-stress hypothesis of schizophrenia: A reconceptualization. *Translational Psychiatry*, **7**, e1024-11. <http://dx.doi.org/10.1038/tp.2016.278>.
13. van Berckel, B.N., Bossong, M.G., Boellaard, R., Kloet, R., Schuitmaker, A., Caspers, E., et al. (2008) Microglia Activation in Recent-Onset Schizophrenia: A Quantitative (R)-[11C]PK11195 Positron Emission Tomography Study. *Biological Psychiatry*, **64**, 820–822.
14. Ribeiro, B.M.M., do Carmo, M.R.S., Freire, R.S., Rocha, N.F.M., Borella, V.C.M., de Menezes, A.T., et al. (2013) Evidences for a progressive microglial activation

- and increase in iNOS expression in rats submitted to a neurodevelopmental model of schizophrenia: Reversal by clozapine. *Schizophrenia Research*, **151**, 12–19. <http://dx.doi.org/10.1016/j.schres.2013.10.040>.
15. Bernstein, H.G., Steiner, J. and Bogerts, B. (2009) Glial cells in schizophrenia: Pathophysiological significance and possible consequences for therapy. *Expert Review of Neurotherapeutics*, **9**, 1059–1071.
 16. Walterfang, M., Wood, S.J., Velakoulis, D. and Pantelis, C. (2006) Neuropathological, neurogenetic and neuroimaging evidence for white matter pathology in schizophrenia. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, **30**, 918–948.
 17. Stertz, L., Magalhães, P.V.S. and Kapczinski, F. (2013) Is bipolar disorder an inflammatory condition? the relevance of microglial activation. *Current Opinion in Psychiatry*, **26**, 19–26.
 18. Marshall, S.A., McClain, J.A., Kelso, M.L., Hopkins, D.M. and Pauly, J.R. (2014) Microglial activation is not equivalent to neuroinflammation in alcohol-induced neurodegeneration: the importance of microglia phenotype. 2014: 10.1016/j.nbd.2012.12.016.Microglial.
 19. Benedetto, B. and Rupprecht, R. (2013) Targeting Glia Cells: Novel Perspectives for the Treatment of Neuropsychiatric Diseases. *Current Neuropharmacology*, **11**, 171–185. <http://www.eurkaselect.com/openurl/content.php?genre=article&issn=1570-159X&volume=11&issue=2&page=171>.
 20. Müller, A., Brandenburg, S., Turkowski, K., Müller, S. and Vajkoczy, P. (2015) Resident microglia, and not peripheral macrophages, are the main source of brain tumor mononuclear cells. *International Journal of Cancer*, **137**, 278–288.
 21. Nakagawa, Y. and Chiba, K. (2014) Role of microglial M1/M2 polarization in relapse and remission of psychiatric disorders and diseases. *Pharmaceuticals*, **7**, 1028–1048.
 22. Zeidán-Chuliá, F., Salmina, A.B., Malinovskaya, N.A., Noda, M., Verkhatsky, A. and Moreira, J.C.F. (2014) The glial perspective of autism spectrum disorders. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, **38**, 160–172. <http://dx.doi.org/10.1016/j.neubiorev.2013.11.008>.
 23. Najjar, S. and Pearlman, D.M. (2015) Neuroinflammation and white matter pathology in schizophrenia: Systematic review. *Schizophrenia Research*, **161**, 102–112. <http://dx.doi.org/10.1016/j.schres.2014.04.041>.
 24. Colton, C.A. (2009) Heterogeneity of microglial activation in the innate immune response in the brain. *Journal of Neuroimmune Pharmacology*, **4**, 399–418.
 25. Cherry, J.D., Olschowka, J.A. and O'Banion, M.K. (2014) Neuroinflammation and M2 microglia: The good, the bad, and the inflamed. *Journal of Neuroinflammation*, **11**, 1–15.
 26. Rao, J., Kellom, M., Kim, H. and Rapoport, S. (2012) Neuroinflammation and synaptic loss. **37**, 198–202.
 27. Group, N.W., Akiyama, H., Barger, S., Barnum, S., Bradt, B., Bauer, J., et al.

- (2000) Inflammation and Alzheimer's disease. **21**, 383–421.
28. Paolicelli, R., Bolasco, G., Pagani, F., Maggi, L., Scianni, M. and Panzanelli, P. (2011) Synaptic Pruning by Microglia Is Necessary for Normal Brain Development. *Acta Neurobiologiae Experimentalis*, **72**, 1–17.
 29. Barnett, J.H. and Smoller, J.W. (2009) The genetics of bipolar disorder. *Neuroscience*, **164**, 331–343.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.neuroscience.2009.03.080>.
 30. McGowan, P.O. and Kato, T. (2008) Epigenetics in mood disorders. *Environmental Health and Preventive Medicine*, **13**, 16–24.
 31. Schneider, M.R., Delbello, M.P., McNamara, R.K., Strakowski, S.M. and Adler, C.M. (2012) Neuroprogression in bipolar disorder. *Bipolar Disorders*, **14**, 356–374.
 32. Leboyer, M., Soreca, I., Scott, J., Frye, M., Henry, C., Tamouza, R., et al. (2012) Can bipolar disorder be viewed as a multi-system inflammatory disease? *Journal of Affective Disorders*, **141**, 1–10.
 33. Rajkowska, G. (2000) Postmortem studies in mood disorders indicate altered numbers of neurons and glial cells. *Biological Psychiatry*, **48**, 766–777.
 34. Rajkowska, G., Halaris, A. and Selemon, L.D. (2001) Reductions in neuronal and glial density characterize the DL PFC cortex in bipolar disorder. *Biol Psychiatry*, **49**, 741–752. http://ac.els-cdn.com/S0006322301010800/1-s2.0-S0006322301010800-main.pdf?_tid=b684add8-b24a-11e5-8665-00000aacb35f&acdnat=1451847146_2bfb2331f0757848ab06844076c36bca.
 35. Haarman, B.C.M.B., Riemersma-Van der Lek, R.F., de Groot, J.C., Ruhé, H.G.E., Klein, H.C., Zandstra, T.E., et al. (2014) Neuroinflammation in bipolar disorder - A [¹¹C]-(R)-PK11195 positron emission tomography study. *Brain, Behavior, and Immunity*, **40**, 219–225. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbi.2014.03.016>.
 36. Kohman, R.A. and Rhodes, J.S. (2013) Neurogenesis, inflammation and behavior. *Brain, Behavior, and Immunity*, **27**, 22–32.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.bbi.2012.09.003>.
 37. Kim, Y.K., Jung, H.G., Myint, A.M., Kim, H. and Park, S.H. (2007) Imbalance between pro-inflammatory and anti-inflammatory cytokines in bipolar disorder. *Journal of Affective Disorders*, **104**, 91–95.
 38. Munkholm, K., Bräuner, J.V., Kessing, L.V. and Vinberg, M. (2013) Cytokines in bipolar disorder vs. healthy control subjects: A systematic review and meta-analysis. *Journal of Psychiatric Research*, **47**, 1119–1133.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.jpsychires.2013.05.018>.
 39. Ortiz-Domínguez, A., Hernández, M., Berlanga, C., Gutiérrez-Mora, D., Moreno, J., Heinze, G., et al. (2007) Immune variations in bipolar disorder: Phasic differences. *Bipolar Disorders*, **9**, 596–602.
 40. Kapczinski, F., Frey, B.N., Andreazza, A.C., Kauer-Sant'Anna, M., Cunha, Â.B.M. and Post, R.M. (2008) Increased oxidative stress as a mechanism for decreased BDNF levels in acute manic episodes. *Revista Brasileira de Psiquiatria*, **30**, 243–245.

41. Gould, T.D. (2006) Targeting glycogen synthase kinase-3 as an approach to develop novel mood-stabilising medications. *Expert Opinion on Therapeutic Targets*, **10**, 377–392. <http://www.tandfonline.com/doi/full/10.1517/14728222.10.3.377>.
42. Miller, A.H., Maletic, V. and Raison, C.L. (2009) Inflammation and Its Discontents: The Role of Cytokines in the Pathophysiology of Major Depression. *Psychiatry: Interpersonal and Biological Processes*, **65**, 732–741.
43. Godbout, J.P. and Johnson, R.W. (2009) Age and Neuroinflammation: A Lifetime of Psychoneuroimmune Consequences. *Immunology and Allergy Clinics of North America*, **29**, 321–337.
44. Koo, J.W. and Duman, R.S. (2008) IL-1 β is an essential mediator of the antineurogenic and anhedonic effects of stress. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **105**, 751–756. <http://www.pnas.org/cgi/doi/10.1073/pnas.0708092105>.
45. Berk, M., Kapczinski, F., Andreazza, A.C., Dean, O.M., Giorlando, F., Maes, M., et al. (2011) Pathways underlying neuroprogression in bipolar disorder: Focus on inflammation, oxidative stress and neurotrophic factors. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, **35**, 804–817. <http://dx.doi.org/10.1016/j.neubiorev.2010.10.001>.
46. Reininghaus, E.Z., McIntyre, R.S., Reininghaus, B., Geisler, S., Bengesser, S.A., Lackner, N., et al. (2014) Tryptophan breakdown is increased in euthymic overweight individuals with bipolar disorder: A preliminary report. *Bipolar Disorders*, **16**, 432–440.
47. Wichers, M.C. and Maes, M. (2004) The role of indoleamine 2,3-dioxygenase (IDO) in the pathophysiology of interferon- γ -induced depression. *Journal of Psychiatry and Neuroscience*, **29**, 11–17.
48. Myint, A.M., Kim, Y.K., Verkerk, R., Scharpé, S., Steinbusch, H. and Leonard, B. (2007) Kynurenine pathway in major depression: Evidence of impaired neuroprotection. *Journal of Affective Disorders*, **98**, 143–151.
49. Steiner J, Walter M, Gos T, Guillemin GJ, Bernstein HG, Sarnyai Z, Mawrin C, Brisch R, Bielau H, ZuSchwabedissen LM, Bogerts B, M.A. (2013) Severe depression is associated with increased microglial quinolinic acid in subregions of the anterior cingulate gyrus: evidence for an immune-modulated glutamatergic/neurotransmission? *JNeuroinflammation*, **10**, 34.
50. Khandaker, G.M. (2015) Inflammation and immunity in schizophrenia : implications for pathophysiology and treatment. *Lancet Psychiatry*, **2**, 258–270.
51. Kubicki, M., McCarley, R.W. and Shenton, M.E. (2009) Evidence for white matter abnormalities in schizophrenia. *Curr Opin Psychiatry*, **292**, 342–351.
52. Ellison-Wright, I. and Bullmore, E. (2009) Meta-analysis of diffusion tensor imaging studies in schizophrenia. *Schizophrenia Research*, **108**, 3–10. <http://dx.doi.org/10.1016/j.schres.2008.11.021>.
53. Uranova, N.A., Vostrikov, V.M., Vikhreva, O. V., Zimina, I.S., Kolomeets, N.S. and Orlovskaya, D.D. (2007) The role of oligodendrocyte pathology in schizophrenia. *International Journal of Neuropsychopharmacology*, **10**, 537–545.

54. Karoutzou, G., Emrich, H.M. and Dietrich, D.E. (2008) The myelin-pathogenesis puzzle in schizophrenia: A literature review. *Molecular Psychiatry*, **13**, 245–260.
55. Tkachev, D., Mimmack, M.L., Huffaker, S.J., Ryan, M. and Bahn, S. (2007) Further evidence for altered myelin biosynthesis and glutamatergic dysfunction in schizophrenia. *International Journal of Neuropsychopharmacology*, **10**, 557–563.
56. Lindholm, E. and Jazin, E. (2007) A possible link between dopamine action and myelin dysfunction in schizophrenia. *Schizophrenia Research*, **96**, 271–272.
57. De Keyser, J., Mostert, J.P. and Koch, M.W. (2007) Dysfunctional astrocytes as key players in the pathogenesis of central nervous system disorders. *Journal of the Neurological Sciences*, **267**, 3–16.
58. Cotter, D.R., Pariante, C.M. and Everall, I.P. (2001) Glial cell abnormalities in major psychiatric disorders : The evidence and implications. **55**, 585–595.
59. Stevens, J.R. (1982) Neuropathology of Schizophrenia. *Arch Gen Psychiatry*, 1982: 10.1002/9781444327298.ch18.
60. Nasrallah, H.A., McCalley-Whitters, M., Bigelow, L.B. and Rauscher, F.P. (1983) A histological study of the corpus callosum in chronic schizophrenia. *Psychiatry Research*, **8**, 251–260.
61. Bruton, C.J., Crow, T.J., Frith, C.D., Johnstone, E.C., Owens, D.G.C. and Roberts, G.W. (1990) Schizophrenia and the brain: A prospective clinico-neuropathological study. *Psychological Medicine*, **20**, 285–304.
62. Rajkowska, G., Miguel-Hidalgo, J.J., Makkos, Z., Meltzer, H., Overholser, J. and Stockmeier, C. (2002) Layer-specific reductions in GFAP-reactive astroglia in the dorsolateral prefrontal cortex in schizophrenia. *Schizophrenia Research*, **57**, 127–138.
63. Konopaske, G.T., Dorph-Petersen, K.A., Sweet, R.A., Pierri, J.N., Zhang, W., Sampson, A.R., et al. (2008) Effect of Chronic Antipsychotic Exposure on Astrocyte and Oligodendrocyte Numbers in Macaque Monkeys. *Biological Psychiatry*, **63**, 759–765.
64. Webster, M.J., O’Grady, J., Kleinman, J.E. and Weickert, C.S. (2005) Glial fibrillary acidic protein mRNA levels in the cingulate cortex of individuals with depression, bipolar disorder and schizophrenia. *Neuroscience*, **133**, 453–461.
65. Steffek, A.E., McCullumsmith, R.E., Haroutunian, V. and Meador-Woodruff, J.H. (2008) Cortical expression of glial fibrillary acidic protein and glutamine synthetase is decreased in schizophrenia. *Schizophrenia Research*, **103**, 71–82.
66. Bruneau, E.G., McCullumsmith, R.E., Haroutunian, V., Davis, K.L. and Meador-Woodruff, J.H. (2005) Increased expression of glutaminase and glutamine synthetase mRNA in the thalamus in schizophrenia. *Schizophrenia Research*, **75**, 27–34.
67. Toro, C.T., Hallak, J.E.C., Dunham, J.S. and Deakin, J.F.W. (2006) Glial fibrillary acidic protein and glutamine synthetase in subregions of prefrontal cortex in schizophrenia and mood disorder. *Neuroscience Letters*, **404**, 276–281.
68. Brisch, R., Bernstein, H.G., Krell, D., Dobrowolny, H., Bielau, H., Steiner, J., et al.

- (2009) Dopamine-glutamate abnormalities in the frontal cortex associated with the catechol-O-methyltransferase (COMT) in schizophrenia. *Brain Research*, **1269**, 166–175. <http://dx.doi.org/10.1016/j.brainres.2009.02.039>.
69. Steiner, J., Bernstein, H.G., Biela, H., Farkas, N., Winter, J., Dobrowolny, H., et al. (2008) S100B-immunopositive glia is elevated in paranoid as compared to residual schizophrenia: A morphometric study. *Journal of Psychiatric Research*, **42**, 868–876.
 70. Steiner, J., Bernstein, H.G., Biela, H., Berndt, A., Brisch, R., Mawrin, C., et al. (2007) Evidence for a wide extra-astrocytic distribution of S100B in human brain. *BMC Neuroscience*, **8**, 1–10.
 71. Calcia, M.A., Bonsall, D.R., Bloomfield, P.S., Selvaraj, S., Barichello, T. and Howes, O.D. (2016) Stress and neuroinflammation: A systematic review of the effects of stress on microglia and the implications for mental illness. *Psychopharmacology*, **233**, 1637–1650.
 72. Frick, L.R., Williams, K. and Pittenger, C. (2013) Microglial dysregulation in psychiatric disease. *Clinical and Developmental Immunology*, **2013**.
 73. Boksa, P. (2010) Effects of prenatal infection on brain development and behavior: A review of findings from animal models. *Brain, Behavior, and Immunity*, **24**, 881–897. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbi.2010.03.005>.
 74. Sominsky, L., Walker, A.K., Ong, L.K., Tynan, R.J., Walker, F.R. and Hodgson, D.M. (2012) Increased microglial activation in the rat brain following neonatal exposure to a bacterial mimetic. *Behavioural Brain Research*, **226**, 351–356. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbr.2011.08.038>.
 75. Diz-Chaves, Y., Astiz, M., Bellini, M.J. and Garcia-Segura, L.M. (2013) Prenatal stress increases the expression of proinflammatory cytokines and exacerbates the inflammatory response to LPS in the hippocampal formation of adult male mice. *Brain, Behavior, and Immunity*, **28**, 196–206. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbi.2012.11.013>.
 76. Hagberg, H., Mallard, C., Ferriero, D.M., Vannucci, S.J., Levison, S.W., Vexler, Z.S., et al. (2015) The role of inflammation in perinatal brain injury. *Nature Reviews Neurology*, **11**, 192–208. <http://dx.doi.org/10.1038/nrneurol.2015.13>.
 77. Giovanoli, S., Engler, H., Engler, A., Richetto, J., Voget, M., Willi, R., et al. (2013) Stress in puberty unmasks latent neuropathological consequences of prenatal immune activation in mice. *Science (New York, N.Y.)*, **339**, 1095–1099.
 78. Trépanier, M.O., Hopperton, K.E., Mizrahi, R., Mechawar, N. and Bazinet, R.P. (2016) Postmortem evidence of cerebral inflammation in schizophrenia: A systematic review. *Molecular Psychiatry*, **21**, 1009–1026.
 79. Delpech, J.C., Wei, L., Hao, J., Yu, X., Madore, C., Butovsky, O., et al. (2016) Early life stress perturbs the maturation of microglia in the developing hippocampus. *Brain, Behavior, and Immunity*, **57**, 79–93. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbi.2016.06.006>.
 80. Hercher, C., Chopra, V. and Beasley, C.L. (2014) Evidence for morphological alterations in prefrontal white matter glia in schizophrenia and bipolar disorder.

81. Fillman, S.G., Cloonan, N., Catts, V.S., Miller, L.C., Wong, J., Mccrossin, T., et al. (2013) Increased inflammatory markers identified in the dorsolateral prefrontal cortex of individuals with schizophrenia. *Molecular Psychiatry*, **18**, 206–214. <http://dx.doi.org/10.1038/mp.2012.110>.
82. Busse, S., Busse, M., Schiltz, K., Biela, H., Gos, T., Brisch, R., et al. (2012) Different distribution patterns of lymphocytes and microglia in the hippocampus of patients with residual versus paranoid schizophrenia: Further evidence for disease course-related immune alterations? *Brain, Behavior, and Immunity*, **26**, 1273–1279. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbi.2012.08.005>.
83. Lavis, S., Guillemin, M., Herard, A.-S., Petit, F., Delahaye, M., Van Camp, N., et al. (2012) Reactive Astrocytes Overexpress TSPO and Are Detected by TSPO Positron Emission Tomography Imaging. *Journal of Neuroscience*, **32**, 10809–10818. <http://www.jneurosci.org/cgi/doi/10.1523/JNEUROSCI.1487-12.2012>.
84. Inglese, M. and Petracca, M. (2015) Therapeutic strategies in multiple sclerosis: A focus on neuroprotection and repair and relevance to schizophrenia. *Schizophrenia Research*, **161**, 94–101. <http://dx.doi.org/10.1016/j.schres.2014.04.040>.
85. Tynan, R.J., Weidenhofer, J., Hinwood, M., Cairns, M.J., Day, T.A. and Walker, F.R. (2012) A comparative examination of the anti-inflammatory effects of SSRI and SNRI antidepressants on LPS stimulated microglia. *Brain, Behavior, and Immunity*, **26**, 469–479. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbi.2011.12.011>.
86. Xie, N., Wang, C., Lin, Y., Li, H., Chen, L., Zhang, T., et al. (2010) The role of p38 MAPK in valproic acid induced microglia apoptosis. *Neuroscience Letters*, **482**, 51–56. <http://dx.doi.org/10.1016/j.neulet.2010.07.004>.
87. Meyer, U., Schwarz, M.J. and Müller, N. (2011) Inflammatory processes in schizophrenia: A promising neuroimmunological target for the treatment of negative/cognitive symptoms and beyond. *Pharmacology and Therapeutics*, **132**, 96–110. <http://dx.doi.org/10.1016/j.pharmthera.2011.06.003>.
88. Wang, B., Navath, R., Romero, R., Kannan, S. and Kannan, R. (2009) Anti-inflammatory and anti-oxidant activity of anionic dendrimer- N-acetyl cysteine conjugates in activated microglial cells. **40**, 1–27.
89. ClinicalTrials.gov search results for ‘Cytosorb’ (2018) 2018. <https://clinicaltrials.gov/ct2/results?cond=&term=cytosorb&cntry=&state=&city=&dist=>.
90. The Pharmaceutical Journal 10 NOV 2017 By Julia Robinson (2017) Trial begins to investigate efficacy of monoclonal antibody against schizophrenia. 2017: 10.1211/PJ.2017.20203911.
91. Khandaker, G., Pearson, R., Zammit, S., Lewis, G. and Jones, P.B. (2014) Association of Serum Interleukin 6 and C-Reactive Protein in Childhood With Depression and Psychosis in Young Adult Life. *JAMA Psychiatry*, **71**, 1121–1128.
92. Zandi, M.S., Irani, S.R., Lang, B., Waters, P., Jones, P.B., McKenna, P., et al. (2011) Disease-relevant autoantibodies in first episode schizophrenia. *Journal of Neurology*, **258**, 686–688.